aquaculture //World Aquaculture. 1989. P. 34-43.
5. Dixon B.A. Antibiotic resistance of bacterial fish pathogen //World Aquaculture Society. 1994. N 25. P. 60-63.
6. Dixon B.A. The biology of antibiotic resistance // World Aquaculture. 2001. V 32, N 4. P. 63-65.
7. Schlotfeldt H.J., Neumann W., Fuhrmann H., Pfortmueller K., Boehm H. Remarks on increasing resistance of fish pathogenic and facultative-fishpatogenic bacteria in Lower Saxony (FRG) // Fish Pathology. 1985. N 9. P. 85-91.
8. Mc Pherson R.M., De Paola A., Zuwno S.R., Motes J.R., Miles L., Guarino A.M. Antibiotic resistance in Gram-negative bacteria from cultured catfish and aquaculture ponds //Aquaculture. 1991. 99, N 3-4. P. 203-211.
9. Lewin C.S., Mechanisms of resistence development in aquatic microorganisms // Chemiotherapy in aquaculture from ther to reality. Paris: O.I.E., 1992. P. 288-301.
10. Юхименко Л.Н., Койдан Г.С. Современное состояние проблема аэромоноза рыб //Рыбн. хоз.-во / Сер. Аквакультура: Информ. пакет Болезни рыб. М.: ВНИЭРХ, 1997. Вып. 2. С. 1-5.
11. Юхименко Л.Н., Койдан Г.С., Бычкова Л.И., Гаврилин К.В. Этиологическая структура аэромонад и эпизоотическая ситуация в рыбоводных хозяйствах // Рыбн. хоз.-во / Сер. Болезни гидробионтов в аквакультуре. Аналит. и реф. информ. М.: ВНИЭРХ. 2001. Вып. 4. С. 1-9.
12. Amlacher E. Taschenbuch der fishkrankheiten. Jena: Gustaf fisher verlag, 1961. 286 s.
13. Bullook G.L., Conroy D.A., Snieszko S.F. Bacterial diseases of fish (eds. Snieszko S.F., Axelord H.R.). Neptune city: T.F.H. Publications, 1972.
14. МУК 4.2.1890-04. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Методические указания.
15. 9. Юхименко Л.Н., Койдан Г.С., Бычкова Л.И., Гаврилин К.В. Этиологическая структура аэромонад и эпизоотическая ситуация в рыбоводных хозяйствах. // Рыбн. хоз.-во / Сер. Болезни гидробионтов в аквакультуре. Аналит. и реф. информ. М.: ВНИЭРХ, 2001; 4: 1–9.
16. Amlacher E. Taschenbuch der fishkrankheiten. Jena: Gustaf fisher verlag, 1961.
17. Bullook G.L., Conroy D.A., Snieszko S.F. Bacterial diseases of fish (eds. Snieszko S.F., Axelord H.R.). Neptune city: T.F.H. Publications, 1972.
18. Падейская Е.Н., Яковлев В.П. Антимикробные препараты группы фторхинолонов в клинической практике. М.: ЛОГАТА, 1998. 352 с.

УДК 619:616.995.1-085

А.А. Зверев
ФГУ «ВГНКИ»

ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИКИ ИМИДОКАРБА В ОРГАНИЗМЕ СОБАК

Исследование фармакокинетики имидокарба проводили на 4 беспородных собаках массой 14-17 кг. Перед проведением опыта животные были клинически обследованы, проведены биохимический и общий анализ крови. По результатам исследований патологий выявлено не было.

Препарат животным вводили однократно, внутримышечно в дозе 4 мг/кг. Взятие крови проводили из периферических вен в заранее определенные сроки (15, 30, 45 минут и далее по часам 1; 3; 6; 9; 12; 15; 18; 21; 24; 48; 72; 96 и 120).

Количественное определение содержания имидокарба дипропионата в плазме крови собак проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым детектированием.

Принцип метода заключается в экстракции действующего вещества из проб плазмы соляной кислотой с метанолом, переэкстракции в диэтиловый эфир, выщелачивании, упаривание экстракта и хроматографировании на жидкостном хроматографе высокого давления с использованием обращеннофазовой колонки и компьютерной программы обработки данных Мультихром (версия 1.52).

Для определения имидокарба в плазме крови собак использовали: жидкостной хроматограф высокого давления Bischoff с УФ-детектором Lambda 1000; хроматографическая обращеннофазовая колонка Lichrospher 100 RP 18 E (250/4,6 мм) с размером частиц сорбента 5 мкм («Bischoff»); вакуумный ротационный испаритель BŰCHI R-114 с вакуумным насосом BŰCHI B-169 и водяной баней BŰCHI B-480 («Donau»); центрифугу лабораторную Sigma 2 K 15; ультразвуковую ванну DLS-310-T; встряхиватель Techmatic TM 1; весы лабораторные, ГОСТ 24104-2001; посуду мерную, лабораторную стеклянную, ГОСТ 1770; воду деионизированную; кислоту фосфорную, о.с.ч., ТУ 6-09-5480-90 (ООО «Авогадро»); кислоту соляную, 65%, х.ч., ТУ 6-09-2878-84 («Химмед»); диэтиловый эфир, ч.д.а., ТУ 2600-001-43852015-02 («Химмед»); фосфат калия однозамещенный, х.ч. (ООО «Авогадро»); метанол, HPLC Grade («Fisher Chemicals»).

Наиболее оптимальные условия хрома-

тографирования были достигнуты при следующих параметрах:

- элюент: ацетонитрил 0,02 М фосфат калия однозамещенный (180/850).
- скорость протекания элюента: 0,6 мл/мин.
- объем вводимой пробы: 20 мкл.
- длина волны УФ-детектирования: 240 нм.
- время удерживания имидокарба: ~ 6,5-7,5 мин.

Для приготовления раствора элюента готовили смесь ацетонитрила с 0,02 М раствором KH2P04 в соотношении 180/850, доводили pH раствора до значения 2 фосфорной кислотой и фильтровали с одновременным дегазированием непосредственно перед использованием.

Предколонку и колонку промывали элюентом в количестве 20 свободных объемов колонки при скорости протекания элюента 0,3 мл/мин. После окончательного уравновешивания колонки устанавливали нулевую линию УФ-детектора на λ= 240 нм.

Приготовление растворов стандартного образца имидокарба дипропионата (фирма «Topharman», Китай, А=99,48%) для построения калибровочного графика проводили методом последовательных разведений водой, готовя стандартные рабочие растворы с концентрациями 1,0; 0,5; 0,25 и 0,1 мкг/мл.

Подготовку проб плазмы к анализу проводили следующим образом: в центрифужные пробирки объемом 50 мл переносили 2 мл плазмы, перемешивали с 2 мл физиологического раствора, добавляли 4 мл 5% соляной кислоты в метаноле, повторно гомогенизировали, полученную смесь встряхивали в течение 10 мин и обрабатывали ультразвуком в течение 15 мин, затем добавляли 4 мл 40% раствора гидроксида натрия. Пробу перемешивали в течение 1 мин, добавляли 25 мл диэтилового эфира, интенсивно встряхивали в течение 5 мин и выдерживали 24 часа при температуре 4-6° С (в холодильнике). После этого пробу центрифугировали в течение 5 мин при скорости 3000 об/мин, фракцию диэтилового эфира отбирали и переносили в круглодонную колбу для последую-

Таблица 1

Концентрация, мкг/мл	Площадь пика в стандартном растворе, мВ*сек	Площадь пика в модельной пробе, мВ*сек	Коэффициент экстракции
1,0	275,375	251,283	0,9125
0,5	138,688	98,517	0,7103
0,25	56,166	41,759	0,7435
0,1	35,568	31,656	0,8900
Среднее значение коэффициента экстракции			0,8141

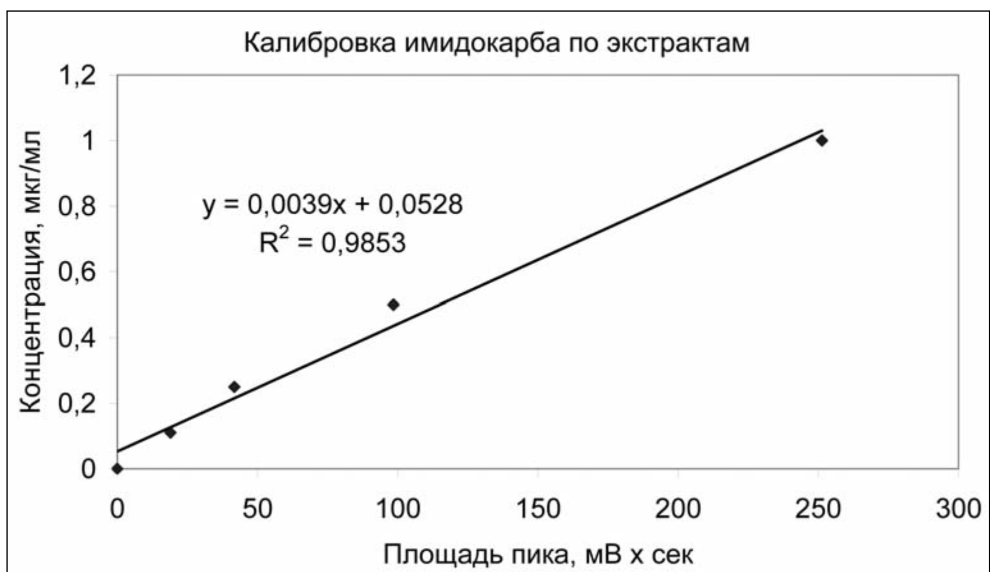


График 1

Таблица 2

Кинетика имидокарба в плазме крови собак

Сроки исследования	Концентрация имидокарба, мкг/мл				Среднее
	1	2	3	4	
15 мин	0,849	0,948	0,517	0,560	0,718+0,21
30 мин	0,794	1,145	0,791	0,995	0,931+0,17
45 мин	0,623	1,332	1,020	0,861	0,959+0,29
1 ч	0,876	1,361	1,045	1,613	1,224+0,33
3ч	0,506	0,341	0,387	0,304	0,384+0,09
6ч	0,106	0,184	0,120	0,158	0,142+0,04
9ч	0,204	0,122	0,088	0,198	0,153+0,06
12 ч	0,156	0,104	0,188	0,237	0,171+0,06
15 ч	0,216	0,182	0,194	0,154	0,186+0,03
18 ч	0,076	О	0,226	0,132	0,108+0,09
21 ч	0,244	0,091	0,058	0,070	0,116+0,08
24 ч	О	0,068	0,086	0,138	0,073+0,05
48 ч	0,072	О	О	О	0,018+0,01
72 ч	О	О	О	0,062	0,015+0,01
96 ч	О	0,061	О	О	0,015+0,01
120 ч	0,060	О	О	О	0,015+0,01

щего упаривания на ротационном испарителе при температуре 40° С. Полученный сухой остаток растворяли в 1 мл метанола, одновременно обрабатывая ультразвуком, переносили в пробирки Эппендорфа объемом 1,5 мл и хранили при температуре не выше минус 20° С до начала опыта.

Для вычисления коэффициента экстракции готовили модельные пробы.

В контрольные образцы плазмы крови объемом 0,9 мл, отобранных от животных до обработки, вносили по 0,1 мл стандартных растворов имидокарба для получения требуемых концентраций: 1,0; 0,5; 0,25 и 0,1 мкг/мл. Пробы тщательно перемешали. Пробоподготовку проводили по вышеописанной методике с образцами плазмы крови. Конечный объем модельных проб экстрактов плазмы составлял 0,5 мл.

Хроматографирование модельных проб экстрактов плазмы крови и растворов стандартного образца имидокарба проводили в соответствии с вышеописанными условиями.

Строили график корреляции площади хроматографического пика и концентрации имидокарба в плазме и рассчитывали коэффициент экстракции (Кэ) имидокарба по следующей формуле: $K_э = S_{об.} / S_{ст.}$, где:

$S_{об.}$ – площадь пика имидокарба в модельной пробе, mV*s;

$S_{ст.}$ – площадь пика имидокарба в стандарте, mV*s.

Полученные результаты представлены в таблице 1 и на графике 1.

Порог определения имидокарба дипропионата (чувствительность метода) в плазме крови – 0,06 мкг/мл.

Концентрацию имидокарба в плазме крови рассчитывали по уравнению, полученному для линии тренда градуировочного графика:

$y = 0{,}0039x + 0{,}0528$

где: y - искомая концентрация имидокарба в плазме крови собак, мкг/мл; x - площадь пика в пробе, мВ*сек.

Полученный коэффициент корреляции близкий к 1 (0,9853) свидетельствует о достоверности аппроксимации полученных данных.

Уже через 15 минут после введения препарата (таблица 2) имидокарб обнаруживался в крови в высоких концентрациях (0,718 мкг/мл), и достигал максимума (1,224 мкг/мл) через 1 час после инъекции Фортикарба 5% раствора. К 6 часу после введения препарата концентрация имидокарба в крови снижалась примерно в 10 раз и сохранялась на этом (0,108-0,186 мкг/мл) уровне в течение суток. В последующие четверо суток (время наблюдения - 120 часов) концентрации имидокарба определялись на пределе чувствительности метода.

SUMMARY

The carried out research has shown that the preparation Imidocarb is detected in dogs' blood plasma in 15 minutes after the administration, reaches a maximum in 1 hour after the administration. 4 days afterwards the concentration of Imidocarb is determined at the method sensitivity level.

Литература

1. Гублер Е.В. Вычислительные методы распознавания патологических процессов. М.: Медицина, 1970, с. 319.
2. Кондрахин И.П., Курилов Н.В., Малахов А.Г. и др. Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии. М.: Агропромиздат, 1985, 183 с.
3. Eureby J., Moreau У., et.al., Experimentation des proprieties antipiroplasmigues de I› Imidocarb sur Babesia canis, agent de la piroplasmose canine en Europe.// 3. Bull. Acad.Vet. France. 1980. Vol. 53. P. 475.
4. Ui1enberg G., Verdiesen P.A., Zwart D. Imidocarb: a chemo prophylactic experiment with Babesia canis.// Vet. Q. 1981. Vol.3 P. 118.

УДК:619.615.33.576.8

Н.П. Зуев

Белгородская государственная седьскохозяйственная академия

ПОЛУЧЕНИЕ И РАЗРАБОТКА АНТИМИКРОБНЫХ КОМПОЗИЦИЙ НА ОСНОВЕ ТИЛОЗИНСОДЕРЖАЩИХ ПРЕПАРАТОВ

Одной из основных предпосылок создания композиционных тилозинсодержащих препаратов является широкий спектр их антимикробной активности как к грамнегативной, так и к грампозитивной микрофлоре.

Цель исследований: На основе фрадизина – 40 (50) разработать композиционные антимикробные препараты, обладающие повышенной ингибирующей активностью по отношению к болезнетворным микроорганизмам, циркулирующим среди больного молодняка сельскохозяйственных животных ЦЧЗ Российской Федерации.

Задачи исследований:

- Определить антибактериальную эффективность антибиотиков и нитрофурановых препаратов, входящих в состав тилозинсодержащих препаратов;

- in vitro выяснить бактериостатическое потенцирующее влияние комбинаций фрадизина с антибиотиками, производными 8-оксихинолина и препаратами нитрофуранового ряда;

- установить оптимальные соотношения ингредиентов самых эффективных сочетаний, проявивших достаточно высокое ингибирующее воздействие на полевые штаммы выделенных микроорганизмов.

Материалы и методы исследований. Работа выполнялась на кафедре диагностики болезней, терапии, акушерства и хирургии БелГСХА. Исследования по созданию лекарственных композиций проводили на основе широко известных препаратов, прошедших проверку временем и практикой. Логически сконструированные соотношения фрадизина-40 (50) с биовитом-80(120),

Таблица 1

Сравнительная антимикробная активность препаратов

Препараты	Антимикробная активность препаратов в мкг/мг					
	E.coli (n=5)	B.bronchiseptica (n=5)	P.multocida (n=3)	P.vulgaris (n=5)	S.dublin (n=10)	St.aureus (n=10)
Фрадизин-40(50)	12,5-16,0	50,0-70,0	13,0-17,0	190,0-220,0	12,0-12,5	5,0-15,0
Биовит-80(120)	12,0-25,0	20,0-160,0	0,2-1,6	130,0-180,0	12,0-25,0	30,0-50,0
Левомицетин	2,0-30,0	-	1,0-2,0	-	2,0-30,0	-
Неомицин	1,0-8,0	-	1,0-8,0	-	1,0-8,0	-
Олаквиндокс	120,0	-	30,0	-	30,0	-
Фармазин	13,0-17,0	60,0-80,0	14,0-18,0	200,0-230,0	13,0-17,0	10,0-20,0
Фуразонал	25,0	-	35,0	-	35,0	-
Эритромицин	6-50	-	1,0-5,0	-	6,0-50,0	-